

## **BAB IV**

### **METODE PENELITIAN**

#### **4.1 Bahan Penelitian**

Bahan-bahan penelitian yang digunakan adalah simplisia daun Insulin yang diperoleh dari UPT Materia Medika Batu. Estrak daun Insulin dibuat di laboratorium sintesis UMM. Bahan pembawa laktosa, PVP K 30, diperoleh dari PT Brataco dengan derajat farmasetika.

#### **4.2 Alat Penelitian**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu maserasi Kinetika, corong buchner, rotavapor (*Rotavapor Heidolph G3*), alat pencetak tablet hidrolis (Perkin Elmer *Hydraulische Press*), ayakan granul mesh 12 dan 14, alat uji kekerasan (*Hardness Tester*), Alat Uji kecepatan alir dan sudut diam (corong standard, stopwatch dan set of *Repose Angels*), alat uji kandungan lengas (*Mettler Toledo HB43-S*), alat uji distribusi granul (*Shieve shaker Pharmaco S04-WT*), alat uji kompartibilitas (Perkin Elmer *Hydraulische Press*), alat uji kekerasan (*Hardness Tester*), alat uji kerapuhan (*Friability Tester Pharmeq FT-USP 120*), alat uji waktu hancur (*Disintegrating Tester 2 Cavity*), alat pengering (*Circulating Air Drying Oven*), neraca analitik (*Mettler Toledo PL 3002 dan Ohaus*), hot late (*Daihan Lab Tech Co. LTD*), mortir dan stamper.

#### **4.3 Rancangan Penelitian**

Penelitian dilaksanakan menggunakan metode eksperimental dengan membandingkan kadar bahan pengikat PVP K 30 terhadap mutu fisik tablet ekstrak daun Insulin. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Formulasi Sediaan Farmasi Universitas Muhammadiyah Malang.

Populasi pada penelitian adalah tablet ekstrak daun Insulin, sedangkan sampel diambil secara acak sesuai dengan jumlah tablet yang akan diuji. Variabel bebas dari penelitian adalah kadar PVP K 30 pada ekstrak daun Insulin. Variabel terikat yaitu mutu fisik tablet ekstrak daun Insulin.

Setiap formulasi dibuat 2 betas sebanyak 100 tablet. Jumlah granul yang dibuat 100 gram untuk setiap formula, sesuai penggunaan untuk uji mutu fisik granul dan pembuatan tablet. Tablet ekstrak daun insulin dibuat dalam 3 formula dengan variasi kadar PVP K 30 1% 2% 3% dan formula kontrol tanpa bahan pengikat. Berikut adalah formula sediaan tablet ekstrak daun Insulin:

**Tabel IV.1** Rancangan Formula Tablet Ekstrak Daun Insulin

Komposisi Fungsi		Formulasi (mg)			
		F1	F2	F3	F4
Ekstrak daun insulin	Bahan aktif	100	100	100	100
Laktosa	Pengisi	524	517,5	511	504,5
PVP K-30	Pengikat	-	6,50	13,0	19,5
Primogel (3%)	Penghancur	19,5	19,5	19,5	19,5
Mg stearat (1%)	Lubrikan	6,50	6,50	6,50	6,50
Bobot Tablet		650	650	650	650

Keterangan:

F1 = formula tanpa PVP K 30 (kontrol)

F2 = formula tablet PVP K 30 1%

F3 = formula tablet PVP K 30 2%

F4 = formula tablet PVP K 30 3%

Rancangan Spesifikasi Produk Dari Tablet dan Dapat dilihat Pada Tabel IV.II

**Tabel IV.II** Spesifikasi Formula Ekstrak Daun Insulin

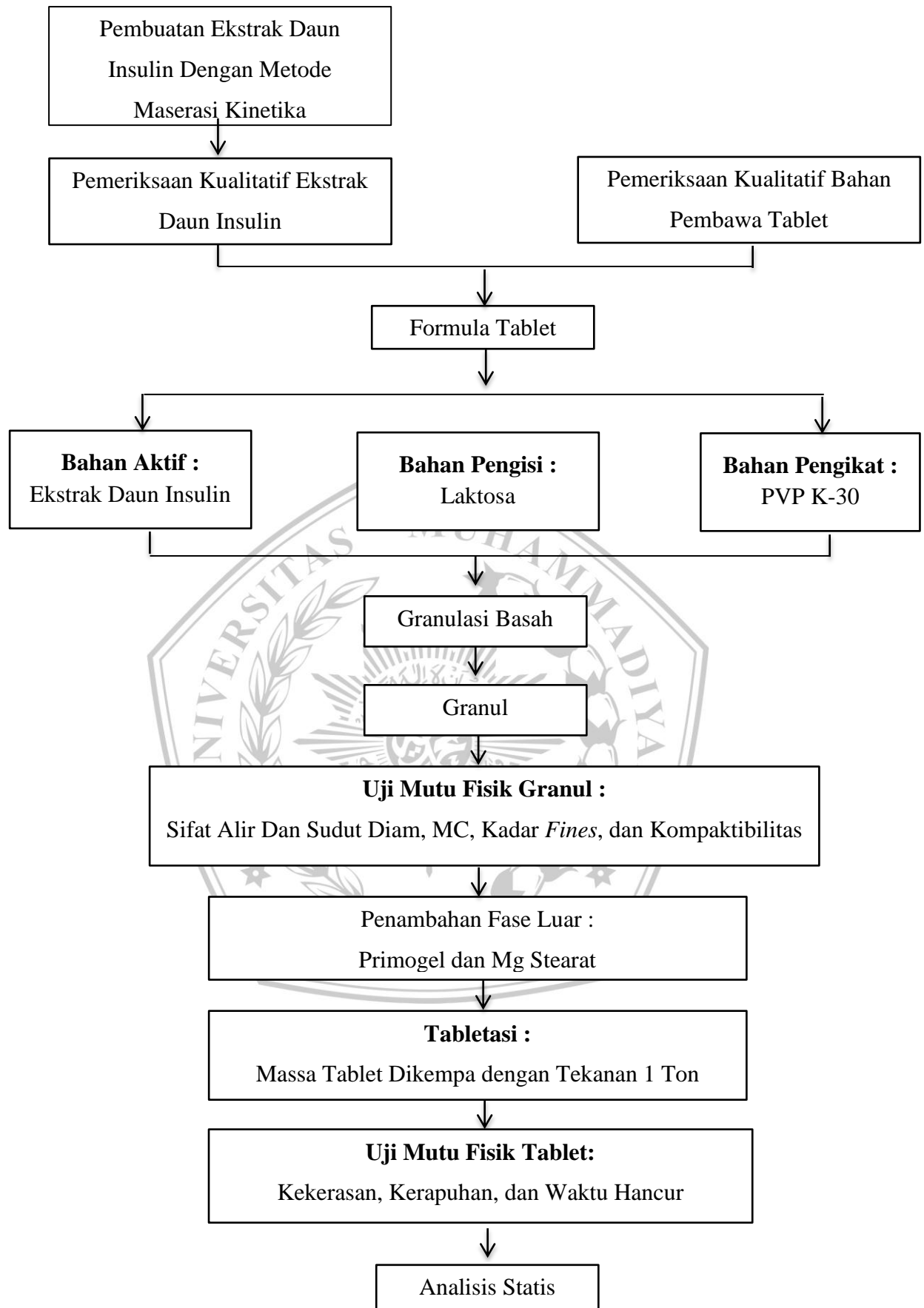
Uji Evaluasi Tablet	Persyaratan
Dosis Ekstrak	100 mg/tablet
Diameter	13 mm
Bobot	650 mg
Uji Kekerasan	4-8 kg
Uji Kerapuhan	$\leq 1\%$ dari berat awal
Uji Waktu Hancur	$\leq 15$ menit

#### 4.4 Cara Kerja

Penelitian ini diawali dengan pembuatan ekstrak daun Insulin ( *Thitonia diversifolis* Herms). Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi perendaman menggunakan pelarut etanol 96%, ekstrak cair yang didapat kemudian dirotavapor. Untuk mengetahui dan membuktikan adanya senyawa flavonoid pada ekstrak daun Insulin, dilakukan identifikasi dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Sedangkan pada bahan tambahan dilakukan uji kualitatif terhadap laktosa, PVP K 30 dengan menggunakan spektrofotometri inframerah.

Selanjutnya ekstrak daun Insulin dibuat tablet dengan metode granulasi basah. Ekstrak daun Insulin dicampur dengan bahan tambahan (eksipien) yaitu laktosa dan primogel sampai homogen. Kemudian larutan PVP K 30 ditambahkan kedalam campuran bahan aktif dan pengisi, dicampur sampai homogen dan terbentuk massa kalis. Massa kalis kemudian diayak dengan pengayak granul ukuran mesh 12, granul yang terbentuk diratakan kemudian dikeringkan sampai memenuhi MC 1-2%, dalam lemari pengering. Setelah itu diayak dengan pengayak granul mesh 16 untuk memperkecil ukuran partikel. Granul yang didapatkan terlebih dahulu dilakukan evaluasi mutu fisik granul yaitu: kandungan lengas (*moisture content*), kecepatan alir dan sudut diam, distribusi ukuran partikel, dan kompaktibilitas. Kemudian ditambahkan Mg stearat sebagai bahan Lubrikan dan ditambahkan Primogel sebagai penghancur, lalu dicampur sampai homogen.

Massa granul dicetak dengan pencetak tablet hidrolik (Perkin Elmer *Hydraulische Press*) menggunakan punch 13 mm. Tablet dari masing-masing formula yang dihasilkan kemudian dievaluasi mutu fisik tabletnya. Hal ini bertujuan untuk mengetahui formula mana yang memberikan mutu fisik tablet yang baik. Bagan alur kerja penelitian dapat dilihat pada gambar 4.1.



**Gambar 4.1** Skema Alur Penelitian

#### **4.4.1 Pembuatan dan Pemeriksaan Ekstrak Daun Insulin**

##### **4.4.1.1 Pembuatan Serbuk simplisia Daun Insulin**

Pada proses pembuatan serbuk daun insulin dilakukan di Materia Medica, Batu. Daun insulin yang sebelumnya sudah dipetik kemudian dicuci sebanyak 3 kali, ditiriskan selama 2 hari d dalam ruangan yang terhindar langsung dari cahaya matahari. Setelah dilakukan proses pengeringan dengan menggunakan lemari pengering pada suhu 40-65°C. Pengeringan dilakukan selama 24 jam sehingga diperoleh bentuk kering daun insulin. Daun insulin yang telah kering di giling menggunakan alat penggiling yang dilengkapi denga ayakan berukuran mesh 90 sehingga didapatkan simplisia serbuk.

##### **4.4.1.2 Pembuatan Ekstrak Daun Insulin**

Setelah didapatkan serbuk daun insulin, kemudian serbuk daun insulin tersebut ditimbang 1 Kg dan dilakukan proses maserasi dengan metode perendaman. Tahap pertama 1 Kg serbuk direndam 1000 ml etanol 96%, selama 1 jam di aduk dengan konstan. Ekstrak dipisahkan dengan cara filtrasi menggunakan corong buchner. Filtrat yang didapatkan diuapkan pelarutnya menggunakan rotavapor pada suhu 40°C.

##### **4.4.1.3 Pemeriksaan Kualitatif Ekstrak**

Identifikasi senyawa flavonoid yang terkandung pada ekstrak daun insulin dilakukan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Sebelumnya ekstrak daun insulin dicuci dengan n-heksana sampai jernih kemudian residu ekstrak dilarutkan dalam etanol. Setelah itu diambil ekstrak daun insulin dan ditotolkan pada plat KLT. Kemudian dimasukkan ke dalam chamber yang berisi larutan eluasi lalu ditutup. Tunggu sampai larutan eluasi naik, setelah selesai lempeng KLT dikeringkan diamati dengan lampu UV. Apabila terbentuk noda berwarna merah sampai jingga maka menunjukkan adanya senyawa flavon dalam ekstrak daun afrika. Apabila terbentuk noda warna merah tua menunjukkan adanya senyawa flavon. Kedua senyawa ini merupakan golongan flavonoid. Identifikasi analisis dengan metode KLT berdasarkan harga R<sub>f</sub>, dimana harga R<sub>f</sub> sendiri dapat didefinisikan sebagai berikut:

$$RF = \frac{\text{Jarak Noda}}{\text{Jarak Tempuh eluen}}$$

#### **4.4.2 Pemeriksaan Kualitatif Bahan Pembawa**

##### **4.4.2.1 Laktosa**

Pemeriksaan kualitatif laktosa dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri inframerah, yakni dengan cara mencampur 1 mg laktosa dengan 300mg serbuk KBr kering digerus sampai homogen , kemudian dikompresi menggunakan penekan hidrolik yang dilengkapi dengan alat penarik uap agar diperoleh lempeng yang tipis dan tembus cahaya. Selanjutnya diukur serapannya pada spektrofotometri. Spektra inframerah yang diperoleh dari sampel dibandingkan dengan standar.

##### **4.4.2.2 PVP K 30**

Pemeriksaan Kualitatif PVP K 30 dilakukan seperti prosedur 4.4.2.1

##### **4.4.2.3 Mg Stearat**

Pemeriksaan Kualitatif PVP K 30 dilakukan seperti prosedur 4.4.2.1

##### **4.4.2.4 Primogel**

Pemeriksaan Kualitatif PVP K 30 dilakukan seperti prosedur 4.4.2.1

#### **4.4.3 Pemeriksaan Mutu Fisik Granul**

Sebelum granul dicetak menjadi tablet maka dilakukan pemeriksaan mutu granul yang meliputi penentuan kandungan lensa, uji kecepatan alir dan sudut diam, distribusi ukuran granul, penentuan kompresibilitas, penentuan kompaktibilitas. Pemeriksaan ini bertujuan untuk mendapatkan granul yang layak dicetak menjadi tablet yang memenuhi standar.

##### **4.4.3.1 Waktu Alir dan Sudut Diam**

Prosedur uji kecepatan alir dan sudut diam dilakukan dengan menimbang granul 50 gram granul dimasukkan dalam corong yang tertutup bagian bawahnya, kemudian disiapkan *stopwatch* untuk menghitung kecepatan alirnya. Penutup corong dibuka dan dibiarkan mengalir keluar membentuk timbunan, dilakukan pencatatan terhadap diameter, tinggi dan waktu mengalirnya granul dan kecepatan alirnya (Victoria Elisabeth, 2018 ).

Kecepatan alir berhubungan dengan sudut diam. Kecepatan alir granul dapat dihitung dengan persamaan sebagai berikut :

$$\tan \theta = \frac{h}{r}$$

Keterangan : h = tinggi kerucut

R = jari-jari kerucut

**Tabel IV.3** Hubungan Sudut Diam dan Daya Alir

Sudut Diam (°)	Daya Alir
<20	Sangat Baik
20-30	Baik
30-34	Cukup Baik
>34	Buruk

#### 4.4.3.2 Kandungan Lengas

Kandungan lengas dengan menggunakan alat *Mettler Toledo HB43-S* dengan cara, alat disiapkan dengan menekan tanda ON, kemudian alat ditara terlebih dahulu, selanjutnya granul sebanyak 2,6–3 gram diletakkan di pan dan diratakan, tekan tombol start. Kandungan lengas granul akan terbaca dan akan berhenti ditandai dengan lampu dari alat *Mettler Toledo HB43-S* mati. Persyaratan kandungan lengas granul kurang dari 2 % (Luo *et al.*, 2012).

#### 4.4.3.3 Kadar Fines

Kadar Fines yaitu mengayak granul menggunakan alat *Shieve Shaker Pharmaco S04-WT* dengan cara setiap ayakan (mesh 120, dan pan) ditimbang satu persatu kemudian disusun. Granul 50 gram dimasukkan kedalam ayakan teratas dan ditutup. Kemudian tekan tombol *on* dan ditunggu selama 10 menit. Selanjutnya setiap ayakan ditimbang dan dihitung selisih antara ayakan berisi granul dan ayakan kosong. Perhitungan dilakukan pada mesh 120 dan pan. Kadar *fines* bertujuan untuk mengetahui jumlah fines yang mempunyai ukuran < 100 mesh, granul yang baik memiliki fines < 20% (Musa *et al.*, 2011).

#### 4.4.3.4 Kompakabilitas

Untuk mengetahui kekompakan dari masa granul untuk membentuk kekerasan masa tablet yang cukup (Patel *et al.*, 2006). Alat yang biasa digunakan untuk uji ini adalah mesin *Hydraulic Press* dengan prosedur sebagai berikut: ditimbang granul dasar, primogel dan Mg Stearat 1% sebagai lubrikan. Campur granul dasar dengan primogel terlebih dahulu, kemudian campurkan dengan Mg Stearat selama 5 menit. Kemudian campuran ditimbang sebanyak 700 mg, dimasukkan ke dalam mesin *Hydraulic Press* dengan ukuran punch 13 mm dan dikompresi dengan tekanan 1 ton dan 2 ton.

#### 4.4.3.5 Kompresibilitas

Prosedur pengujian kompresibilitas dapat dilakukan seperti yang sudah dijelaskan sebelumnya. Pasang gelas ukur pada penyangga, lakukan pada 10, 500, dan 1250 ketukan pada contoh serbuk yang sama dan baca V10, V500, V1250 ke satuan gelas ukur terdekat. Jika perbedaan antara V500 dan V1250 kurang dari 2 ml, maka V1250 adalah volume pemampatan. Jika perbedaan antara V500 dan V1250 melebihi 2 ml, ulangi peningkatan seperti pengetukan 1250 hingga perbedaan antara pengukuran kurang dari 2 ml (Farmakope Indonesia V, 2014).

#### 4.4.4 Pemeriksaan Mutu Fisik Tablet

##### 4.4.4.1 Kekerasan Tablet

Alat yang digunakan pada uji kekerasan tablet adalah *Hardness Tester*, Uji ini dilakukan dengan prosedur dipilih 3 tablet secara acak dari masing-masing formula secara acak. Setiap tablet dipasang pada *Hardness Tester* dengan posisi vertical kemudian diputar bagian penekannya dan diamati skala saat tablet mulai retak. Kekerasan tablet dinyatakan dalam satuan kilogram (Reddy *et al.*, 2014).

##### 4.4.4.2 Kerapuhan Tablet

Pengujian kerapuhan tablet menggunakan alat *Friability Tester*. Prosedur ditimbang 10 tablet yang akan diuji kerapuhannya, selanjutnya seluruh tablet dimasukkan ke dalam alat uji kerapuhan, nyalakan alat dengan kecepatan 25 rpm dengan 100 kali putaran. Kemudian tablet dikeluarkan dari alat uji kerapuhan dan dibersihkan menggunakan kuas, kemudian ditimbang kembali (USP, 2012).



#### 4.4.4.3 Waktu Hancur Tablet

Masukan 1 tablet pada masing-masing 6 tabung dari keranjang, jika dinyatakan masukan dalam 1 cakram pada tiap tabung. Jalankan alat, gunakan air bersuhu  $37^{\circ}\pm 2^{\circ}$  sebagai media kecuali dinyatakan menggunakan cairan lain dalam masing-masing monografi. Pada akhir batas waktu seperti tertera pada monografi angkat keranjang dan amati semua tablet : semua tablet harus hancur sempurna. Bila 1 atau 2 tablet tidak hancur sempurna, ulangi pengujian dengan 12 tablet lainnya : tidak kurang 16 dari 18 tablet yang di uji harus hancur semua (Farmakope Indonesia V, 2014) .

#### 4.5 Analisis Statistik

Hasil penentuan pengaruh kadar PVP K 30 terhadap mutu fisik tablet meliputi kekerasan tablet, kerapuhan tablet dan waktu hancur tablet ekstrak daun Insulin dianalisis menggunakan one way anova dengan program SPSS pada tingkat kepercayaan 95%.

Jika diperoleh hasil nilai F hitung lebih besar dari pada F tabel, maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan antara formula. Selanjutnya dilakukan perhitungan dengan uji Tukey HSD (*Honestly Significant Difference Test*) untuk mengetahui pada formula mana saja yang terdapat perbedaan.